

대한민국 특허청
KOREAN INTELLECTUAL
PROPERTY OFFICE

별첨 사본은 아래 출원의 원본과 동일함을 증명함.

This is to certify that the following application annexed hereto
is a true copy from the records of the Korean Intellectual
Property Office.

출원번호 : 10-2003-0001286
Application Number

출원년월일 : 2003년 01월 09일
Date of Application
JAN 09, 2003

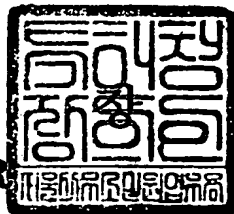
출원인 : 주식회사 자광
Applicant(s) JAKWANG CO., LTD.



2003 년 08 월 01 일

특 허 청

COMMISSIONER



【서지사항】

【서류명】	특허출원서
【권리구분】	특허
【수신처】	특허청장
【제출일자】	2003.01.09
【발명의 명칭】	수용성 천연필름과 그의 제조방법
【발명의 영문명칭】	A water soluble natural film and its preparing method
【출원인】	
【명칭】	주식회사 자광
【출원인코드】	1-1999-024796-7
【대리인】	
【성명】	허상훈
【대리인코드】	9-1998-000602-6
【포괄위임등록번호】	2001-002327-1
【발명자】	
【성명의 국문표기】	유향자
【성명의 영문표기】	YOU, HYUNG JA
【주민등록번호】	610202-2251413
【우편번호】	463-030
【주소】	경기도 성남시 분당구 분당동 동문빌라 101동 302호
【국적】	KR
【발명자】	
【성명의 국문표기】	서상봉
【성명의 영문표기】	SEO, SANG BONG
【주민등록번호】	591203-1029710
【우편번호】	463-030
【주소】	경기도 성남시 분당구 분당동 동문빌라 101동 302호
【국적】	KR
【심사청구】	청구
【취지】	특허법 제42조의 규정에 의한 출원, 특허법 제60조의 규정에 의한 출원심사를 청구합니다. 대리인 허상훈 (인)

【수수료】

【기본출원료】 20 면 29,000 원

【가산출원료】 6 면 6,000 원

【우선권주장료】 0 건 0 원

【심사청구료】 5 항 269,000 원

【합계】 304,000 원

【감면사유】 소기업 (70%감면)

【감면후 수수료】 91,200 원

【첨부서류】 1. 요약서·명세서(도면)_1통 2. 소기업임을 증명하는 서류_1통

【요약서】

【요약】

본 발명은 수용성 천연필름과 그의 제조방법에 관한 것으로, 보다 상세하게는 키틴/키토산을 라이소자임(Lysozyme)으로 분해처리하고 에탄올 세정한 다음 소금(NaCl) 용액 상에서 전기조정과 초음파분해처리 및 이온교환 처리 공정을 거쳐서 수용성 β -글루코사민 섬유소를 제조한 후 면역단백질(γ -글루블린)을 나노 사이즈 표면결합시킨 수용성 키토산을 주요 원료 물질로 하고, 여기에 해조류 및 기능성 성분을 포함하는 조성물을 증류수에 용해한 후 겔화시켜 제조한 수용성 천연 필름에 관한 것이다. 본 발명에 따른 수용성 천연 필름은 기존의 키토산을 포함하는 필름과 달리 수용성 및 면역성이 강화된 특징의 수용성 키토산과 해조류 및 기능성 성분이 일정 함량비로 포함되어 있음으로써 필름의 매트릭스에 탄성을 부여하여 필름의 성형이 용이하게 하고, 주요 구성성분이 천연성분으로 이루어져서 인체에 대한 적합성이 높고, 섭취시 취식감을 개선하며, 특히 필름 조성물 자체로서 원하는 두께와 크기를 가지는 필름으로 제조하거나 통상의 생분해성 수지 필름에 코팅처리시켜서 제조할 수 있기 때문에, 속효성 구강청정제용 필름이나 식품 포장재에 적용할 경우 더욱 우수한 효과를 얻을 수 있다.

【대표도】

도 1

【색인어】

수용성, 천연 필름, 키토산, 해조류, 항균활성

【명세서】**【발명의 명칭】**

수용성 천연필름과 그의 제조방법{A water soluble natural film and its preparing method}

【도면의 간단한 설명】

도 1 은 본 발명의 천연필름 제조에 사용된 키토산의 그램음성균에 대한 최소저해농도 측정 결과를 나타낸 그래프이다.

도 2 는 본 발명의 천연필름 제조에 사용된 키토산의 농도에 따른 E. coli 에 대한 증식 억제 효과를 나타낸 그래프이다.

도 3 은 본 발명의 천연필름 제조에 사용된 키토산의 농도에 따른 후살리움 솔라니(Fusarium solani)에 대한 증식억제 효과를 나타낸 그래프이다.

도 4 는 본 발명의 천연필름 제조에 사용된 키토산의 농도에 따른 락토바실러스 카세이(Lactobacillus casei)에 대한 증식억제 효과를 나타낸 그래프이다.

【발명의 상세한 설명】**【발명의 목적】****【발명이 속하는 기술분야 및 그 분야의 종래기술】**

<5> 본 발명은 수용성 천연 필름과 그의 제조방법에 관한 것으로, 보다 상세하게는 키틴/키토산을 라이소자임(Lysozyme)으로 분해처리하고 에탄올 세정한 다음 소금(NaCl) 용액 상에서

전기조정과 초음파분해처리 및 이온교환 처리 공정을 거쳐서 수용성 β -글루코사민 섬유소를 제조한 후 면역단백질(γ -글루블린)을 나노 사이즈 표면결합시킨 수용성 키토산을 주요 원료 물질로 하고, 여기에 해조류 및 기능성 성분을 포함하는 조성물을 증류수에 용해한 후 겔화시켜 제조한 수용성 천연 필름에 관한 것이다.

<6> 키토산은 자연계에 존재하는 아미노폴리사카라이드의 일종으로 게, 새우의 껍질과 오징어 뼈, 곰팡이, 버섯류 및 세균 등의 미생물의 세포벽에 함유되어 있는 키틴을 탈아세틸화하여 얻어지는 천연물질로 독성이 없고, 생분해가 가능하며, 생체친화성을 가지고, 세포의 결합 및 생체조직배양, 항균성, 지혈작용, 생체적합성 등의 생체학적 특징과 콜레스테롤 저하작용, 장내대사작용, 면역증강에 의한 항암작용, 간기능 개선 및 혈당저하작용, 중금속 해독작용 등의 생리작용을 하는 것으로 알려져 있다.

<7> 키틴은 분자내에 아세틸아미노기를 가지므로 분자간 수소결합이 매우 강하여 화학약품에 대한 내성이 강하고 물과 유기용매에도 녹지 않기 때문에 섬유, 필름 등의 형태로 성형하는 것이 어려워서 그 활용에 큰 장애가 된다. 따라서, 상기한 성질을 가지는 키틴을 탈아세틸화시켜서 약산성 액상에서 수용성이 발현되는 키토산으로 전환시킨 다음, 이러한 제조방법에 의하여 기존의 키토산보다 우수한 물성적 특성을 갖는 수용성 키토산을 상업적으로 이용할 수 있다.

<8> 키틴 및 키토산은 초기에는 식품공장 폐수내의 유효물질을 회수하는 응집제로 쓰였으나, 최근 식품 분야, 의료의학분야, 기능성막, 생물공학분야, 화장품분

야, 농업분야, 화공분야, 환경분야 등 전반적인 산업분야에 걸쳐서 폭넓게 개발되어 사용되고 있다. 한편, 세계적으로 고품위, 고기능성의 생체 임상의학용 키티, 키토산은 응용범위가 확대되는 추세인데 각종 임상의학적 적용이 용이하고 기능성이 우수한 차별화된 키티, 키토산의 제조법은 상기 요구에 부응하지 못하고 있는 실정이다.

- <9> 키티 또는 키토산을 원료물질로 사용하여 필름 또는 섬유 등 여러 형태로 제조하는 기술로서 공지된 기술로는 다음과 같은 것이 있다.
- <10> 미국특허 제3,533,940호는 키티로부터 키토산을 제조할 수 있으며, 키토산은 초산 등과 같은 유기산수용액에 용해되어 섬유, 필름 등을 성형할 수 있는 용액으로 만들어질 수 있음을 개시하고 있다. 또한 미국특허 제4,699,135호는 키티를 염화리튬을 함유한 디메틸아세트아마이드 등 극성유기용매에 용해시켜서 키티섬유를 제조하는 방법과 초산수용액에 용해시킨 키토산용액으로부터 얻은 키토산 단섬유에 대하여 개시하고 있다.
- <11> 또한 미국특허 제4,996,307호는 동일 시스템에서 단시간내 고수율의 획득이 가능한 아실화도 35 ~ 65 %인 고분자량의 수용성 아실화된 키토산 제조방법을 제시하고 있으며, 미국특허 제5,900,479호에서는 키토산을 유기산 수용액에 용해시킨 키토산 용액을 사용하여 불용성인 키티성분의 필름 및 섬유를 제조하는 방법을 제시하고 있다.
- <12> 그러나, 상기와 같은 방법으로 제조된 필름 및 섬유들은 최종 제조된 제품들이 모두 유기산을 포함하는 용액이나 유기용매에 용해된 채 사용되어 왔으며, 이로써 제조된 필름 등은 물이나 수분에 의해 용해되는 수용해성을 나타내지 못하기 때문에 활용도의 측면에서 여러 가지 제한이 많은 문제점이 있다.

【발명이 이루고자 하는 기술적 과제】

- <13> 이에 본 발명의 발명자들은 상기와 같이 수용해성을 갖지 못하는 문제점을 해결하기 위하여 연구 노력한 결과, 키틴/키토산을 라이소자임으로 분해처리, 에탄올 세정, 소금(NaCl)용액 상에서 전기조정과 초음파분해처리, 및 이온교환 처리 공정을 거쳐서 수용성 β -글루코사민 섬유소를 제조한 후 면역단백질인 γ -글루블린을 나노 사이즈 표면결합시킴으로써 기존의 키토산 개념과 차별화되는 기능적 요소를 함유하는 특성을 부여한 키토산을 주요 원료로 사용하되, 또한 동시에 해조류와 기능성 성분을 포함함으로써 필름 매트릭스에 탄성을 부여하여 필름의 성형이 용이하게 하고, 주요 구성성분이 천연성분으로 이루어져서 인체에 대한 적합성과 섭취시 취식감을 개선할 수 있었다.
- <14> 또한, 상기 키토산을 포함하는 원료들을 물에 용해시키고 일정시간동안 숙성하여 점도를 부여한 필름 형성 재료를 제조한 다음 압축성형하거나 소수성 또는 생분해성을 갖는 통상의 필름 표면 위에 점층 스프레이하고, 에탄올 95 ~ 99.99 중량%와 글루타르알데히드 (Glutaraldehyde) 0.01 ~ 5 중량%의 혼합 결정화 용액에 고형화시키는 방법을 사용할 경우 상기와 같은 문제점을 해결할 수 있음을 알게되어 본 발명을 완성하였다.
- <15> 따라서, 본 발명은 상기와 같은 기능적 요소를 함유하는 특성을 가진 키토산을 함유하는 수용성 천연 필름과 그의 제조방법을 제공하는데 그 목적이 있다.

【발명의 구성 및 작용】

- <16> 본 발명은 키토산을 함유하는 필름에 있어서, 키틴/키토산을 라이소자임으로 분해처리한 다음, 소금용액상에서 초음파처리하고, 이온교환처리하여 제조된 수용성 β -글루코사민 섬유소

를, 면역단백질로서 γ -글루블린으로 나노코팅시켜 제조된 면역성이 강화된 수용성 키토산 20 ~ 99.98 중량%; 우무가사리, 해파리, 미역, 다시마 및 이들의 추출액 중에서 선택된 하나 또는 둘 이상의 혼합물로서의 해조류 0.01 ~ 75 중량%; 그리고, γ -글루블린, 콜린산, 아스타산틴(Astaxanthin), 루틴(Rutin), 렉시틴(Lecithin), 목향(*Inula helenium L.*), 셀룰로스 및 콜라겐 중에서 선택된 하나 또는 둘 이상의 혼합물로서의 기능성 성분 0.01 ~ 30 중량%를 포함하는 성분으로 구성된 수용성 키토산 천연필름 조성물을 특징으로 한다.

<17> 또한 본 발명은 키토산을 함유하는 필름을 제조하는 방법에 있어서, 1) 키토산/키토산올라이소자임으로 분해처리한 다음, 소금용액상에서 초음파처리하고, 이온교환처리하여 제조된 수용성 β -글루코사민 섬유소를, 면역단백질로서 γ -글루블린으로 나노코팅시켜 면역성이 강화된 수용성 키토산을 제조하는 단계; 2) 상기 면역성이 강화된 수용성 키토산 20 ~ 99.98 중량%, 우무가사리, 해파리, 미역, 다시마 및 이들의 추출액 중에서 선택된 하나 또는 둘 이상의 혼합물로서의 해조류 0.01 ~ 75 중량%, γ -글루블린, 콜린산, 아스타산틴(Astaxanthin), 루틴(Rutin), 렉시틴(Lecithin), 목향(*Inula helenium L.*), 셀룰로스 및 콜라겐 중에서 선택된 하나 또는 둘 이상의 혼합물로서의 기능성 성분 0.01 ~ 30 중량%를 포함하는 구성성분을 증류수에 용해시켜 0.001 ~ 70 % 농도의 겔을 만드는 단계; 3) 상기 2 단계에서 제조된 겔을 점도가 10 ~ 150 cps 가 될 때까지 숙성시키는 단계; 4) 상기 3 단계에서 숙성된 겔을 에탄올 95 ~ 99.9 중량%와 글루타르 알데히드 0.1 ~ 5 중량%로 이루어진 경화용액으로 경화시키는 단계; 및 5) 상기 4 단계에서 경화된 겔을 압축성형 또는 생분해성 필름 또는 통상의 필름의 일면 또는 양면에 스프레이 처리한 다음 건조시키는 단계를 포함하여 구성된 수용성 키토산 천연필름의 제조방법을 포함한다.

<18> 상기와 같은 본 발명을 보다 상세하게 설명하면 다음과 같다.

<19> 본 발명은 수용성 천연 필름과 그의 제조방법에 관한 것으로, 보다 상세하게는 키틴/키토산을 라이소자임(Lysozyme)으로 분해처리하고 에탄올 세정한 다음 소금(NaCl) 용액 상에서 전기조정과 초음파분해처리 및 이온교환 처리 공정을 거쳐서 수용성 β -글루코사민 섬유소를 제조한 후 면역단백질(γ -글루블린)을 나노 사이즈 표면결합시킨 수용성 키토산을 주요 원료 물질로 하고, 여기에 해조류 및 기능성 성분을 포함하는 조성물을 증류수에 용해한 후 겔화시켜 제조한 수용성 천연 필름에 관한 것이다. 본 발명에 따른 수용성 천연 필름은 기존의 키토산을 포함하는 필름과 달리 수용성이 강화되어 있으므로 사용된 수용성 키토산의 우수한 항균활성을 보다 다양한 분야에 적용할 수 있으며, 특히 해조류와 기능성 성분을 포함함으로써 필름의 매트릭스에 탄성을 부여하여 필름의 성형이 용이하게 하고, 주요 구성성분이 천연성분으로 이루어져서 인체에 대한 적합성과 섭취시 취식감을 개선하며, 특히 필름 조성물 자체로서 원하는 두께와 크기를 가지는 필름으로 제조하거나 통상의 생분해성 수지 필름에 코팅처리시켜서 제조할 수 있기 때문에, 필름상의 제품의 경우는 휴대가 간편하고, 섭취가 용이하여 속효성 구강청정제용 필름에 적용하거나, 통상의 필름에 코팅하여 사용하는 경우 식품 포장재에 적용하면 우수한 항균활성으로 인해 식품의 부패를 유발시키는 유해균의 생육을 효율적으로 억제하므로써 장기간동안 신선하게 식품을 보존할 수 있으며 생분해성이 우수하여 자연 분해성 포장재로 이용할 수 있어서 더욱 우수한 효과를 얻을 수 있다.

<20> 본 발명에서 사용되는 수용성 키토산은 천연생체고분자 소재인 키틴/키토산을 라이소자임(Lysozyme)으로 분해처리, 에탄올 세정, 소금(NaCl)용액상에서 전기조정과 초음파분해처리, 이온교환 처리하여 수용성 β -글루코사민 섬유소를 제조한 후 면역단백질(γ -글루블린)을 나노 사이즈 표면결합시켜 제조한 것으로서[특허출원 제 2001-40955호], 기존의 키토산 개념과 차별화되는 기능적 요소를 함유하고 있는 면역성이 강화된 수용성 키토산이다.

- <21> 본 발명에서 사용된 상기 수용성 키토산은 1,000 ~ 1,000,000 Da 의 분자량을 가진 것이 사용될 수 있으며, 100,000 ~ 500,000 Da 의 분자량을 가지는 키토산을 사용할 경우 제조된 필름의 항균력과 물성의 측면에서 보다 바람직한 효과를 기대할 수 있으며, 분자량 100,000 ~ 500,000 Da 범위에서 분자량별 키토산의 항균활성에 대한 연구결과는 이미 1998년 프랑스 칸느에서 열린 세계 화장품학회에서 발표된 바 있다[International federation of the societies of cosmetic chemists proceedings of the 20th IFSCC congress :Cannes France September 14-18, 1998 'Preparation of multi functional low molecular weight chitosan and its application in cosmetics', Discover the secret of asian natural beauty (5th ASCS 2001) :1-3 March, Bangkok, Thailand. 'development of natural preservative system using the mixture of chitosan-*Inula Helenium L.* extracts'].
- <22> 본 발명에 사용되는 면역성이 강화된 수용성 키토산은 분자량 범위가 100,000 ~ 500,000 Da 이며, 10 ~ 150 cps (브룩필드 점도계) 정도의 고점도의 분포를 지니는 키토산이 사용되며, 분자량이 상기 범위를 벗어나면 구강과 관계된 세균과 식품에 관계되는 세균에 대하여 높은 항균활성을 기대할 수 없으며, 점도가 상기 범위를 벗어나면 필름상으로 제형시 기본 성형에 문제점이 있다.
- <23> 본 발명의 천연필름은 상기한 특성을 가지는 면역성이 강화된 수용성 키토산이 20 ~ 99.98 중량% 범위로 포함되고, 상기한 키토산 이외에도 매트릭스 구성성분으로서 해조류 0.01 ~ 75 중량% 및 기능성 성분 0.01 ~ 30 중량%을 포함하여 구성된다.
- <24> 상기 해조류로는 우무가사리, 해파리, 미역, 다시마 및 이들의 추출액 등 중에서 선택된 하나 또는 둘 이상의 혼합물이 사용될 수 있다. 상기 해조류는 성분 자체로서 인체 친화적인 천연 재료이므로 섭취시 인체에 유용하며, 해조류의 점액질 성분은 취식시 키토산이 가지는

다소 거친 질감을 완화하여 구강내에서 부드러운 감촉을 부여하는 효과와, 필름 성형시 점성과 탄성을 부여하여 매트릭스 형성을 용이하게 한다. 이와 같은 해조류는 본 발명의 수용성 키토산 천연 필름 조성물에 0.01 ~ 75 중량%를 사용하는데, 이때 사용량이 0.01 중량% 미만이면 상기 특성이 발현되지 않고, 75 중량%를 초과하면 상대적으로 면역성이 강화된 수용성 키토산의 사용량이 적어지게 되기 때문에 높은 항균성 발현에 문제가 있다.

<25> 상기 해조류 이외에 사용되는 구성성분으로서 기능성 성분으로는 알부민류(Albuminoid)로서 γ -글루블린, 콜린산, 아스타잔틴(Astaxanthin), 루틴(Rutin), 렉시틴(Lecithin), 목향(*Inula helenium L.*), 셀룰로스 및 콜라겐 등 중에서 선택된 하나 또는 둘 이상의 혼합물이 사용될 수 있다. 상기 해조류와 마찬가지로 본 발명의 수용성 키토산 천연 필름 조성물에는 천연 성분으로 이루어진 기능성 성분으로 포함함으로써 상기 기능성 성분의 각종 기능성을 필름에 부여함은 물론 인체와의 친화성이 높으며, 본 발명의 면역성이 강화된 수용성 키토산과의 혼화성이 우수하여 상승작용을 기대할 수 있으며, 필름 성형시 매트릭스 형성이 용이하게 한다. 이와 같은 기능성 성분은 본 발명의 수용성 키토산 천연 필름 조성물에 0.01 ~ 30 중량%를 사용하는데, 이때 사용량이 0.01 중량% 미만이면 상기 특성이 발현되지 않고, 30 중량%를 초과하면 필름 성형시 문제가 있다.

<26> 본 발명의 수용성 키토산을 함유하는 천연필름은 기존의 키토산 함유 필름과 달리 고분자량이면서 우수한 항균활성을 가진 면역성이 강화된 수용성 키토산을 원료물질로 사용하며, 또한 본 발명에서 제조된 천연 필름은 수용성의 특징을 갖는다. 즉, 본 발명에서 사용된 수용성 키토산은 천연생체고분자 소재인 키틴/키토산을 라이소자임(Lysozyme)으로 분해처리, 에탄올 세정, 소금(NaCl)용액 상에서 전기조정과 초음파분해처리, 이온교환 처리하여 수용성 β -글루코사민 섬유소를 제

조한 후 면역단백질(γ -글루블린)을 나노 사이즈 표면결합시킴으로써 제조된 면역성이 강화된 키토산을 사용하며, 상기와 같은 특징을 가지는 수용성 키토산을 사용하여 기존의 키토산 필름이 가지는 항균활성을 더욱 증가시키며, 제조된 필름이 수용성을 갖는 것에 그 특징이 있다.

<27> 이 외에도, 필요에 따라 향료 0 ~ 1 중량%, 감미료, 색소 0 ~ 1 중량% 및 기타 첨가제 0 ~ 1 중량% 등 중에서 선택된 성분을 포함시켜 필름을 제조할 수 있으며, 이를 구강 청정제 용 필름 제조시에 적용할 수 있으며, 생분해성 필름이나 통상의 필름의 일면 또는 양면에 도포하여 포장재로서 사용할 수 있다.

<28> 본 발명의 천연필름을 제조하는 방법을 상세하게 설명하면 다음과 같다.

<29> 먼저, 본 발명의 특징적인 면역성이 강화된 수용성 키토산, 해조류 추출물, 기능성 성분 및 기타 혼합 첨가제 등을 정량한 다음 증류수에 용해시켜 겔을 제조한다. 이때 겔의 농도가 0.001 ~ 70 %가 되도록 하는데, 겔의 농도가 0.001 % 미만이거나 70 %를 초과하면 숙성 시 원하는 점도를 얻기 힘들다. 상기와 같은 농도로 제조된 겔을 점도가 10 ~ 150 cps 가 되도록 숙성시켜서 필름 캐스팅용 겔을 만드는데, 점도가 10 cps 미만이면 필름 성형이 용이하지 못하고, 150 cps 를 초과하면 필름의 탄성이 적어져 필름 성형시 깨지기 쉽다.

<30> 상기와 같이 제조된 필름 캐스팅용 겔을 압축성형하거나, 소수성 폴리에틸렌테레프탈레이트(PET) 필름 또는 생분해성 필름에 상기 제조된 필름 캐스팅용 겔을 스프레이 캐스팅한 다음 에탄올 95 ~ 99.99 중량%와 글루타르알데히드 0.01 ~ 5 중량%의 혼합 결정화 용액에 통과시켜서 고정화한다. 상기 고정화된 필름 겔을 필름 제조기를 통과시키고, 마이크로 나이프로 압축성형 사이징하여 원하는 크기와 두께를 가지도록 하고, 롤링 후 에어 열풍 건조하여 목적하는 수용성의 천연필름을 제조한다.

<31> 상기와 같이 제조된 천연 필름은 구강용으로 사용 시에는 구강내에서 빠르게 용해되어 흡수될 수 있으므로 속효성을 기대할 수 있으며, 필름상으로 제조되므로 휴대와 운반이 간편한 효과가 있다. 또한, 상기와 같이 제조된 필름을 식품용 포장재에 적용할 경우 식품의 부패를 유발시키는 세균과 곰팡이류의 생육을 효과적으로 저해할 수 있으므로 식품의 보존기간을 연장할 수 있는 우수한 효과가 있다.

<32> 이하 실시예에 의하여 본 발명을 구체적으로 설명하는바, 다음 실시예에 의하여 본 발명의 범위가 한정되는 것은 아니다.

<33> 제조예 : 수용성 키토산의 제조

<34> 미국특허 제 5,730,876호를 기초로 제조한 수용성 키토산(평균분자량 구성 10만 ~ 50만) 1000 g을 라이소자임으로 분해시키고, 소금(NaCl) 30 % 용액상에서 pH 6 ~ 7 범위로 맞춘 후 3 시간, 45 ℃, 파장 50 ~ 100 KHz에서 단계 조정 초음파 분해처리 시킨 후, NH₂고리의 변화 및 변형의 저지 및 최소 안정화를 위하여 80 ℃에서 2시간 지속 후 이온교환 처리하였다. 이때, 양이온수지는 DIAION PK228[삼양사, 한국]을 분당 1,500 cc 투과되게 사용하였고, 음이온 수지는 Dupont 사(USA)의 것으로 분당 500 cc 투과되게 사용하였으며, 효소반응시의 미반응 물질과 불순물, 잔여 이온들의 제거에 카본 필터를 사용하여 충실하게 분획분리로 필요한 분자량의 분산집적효율이 1.1 ~ 1.9 되게 순수도와 집적도를 높였다. 수용액 상에서 음이온과 양이온의 이온들을 확인하여 본 바 해리 이온이 없는 것을 알 수 있었다.

<35> 분리공정으로 분산을 집적시키며 효소처리 후의 잔여 효소제거 및 고분자의 분획을 하기 위해 분획분자량이 100만, 60만, 30만, 20만, 10만을 차례대로 분획 병행 및 반복하였으며, 여과장치와 여과막(가로 \times 세로: 200 mm \times 300 mm의 평막)은 자체 제작하여 사용하고 목적 수율(yield)은 95 %(\pm 10 %)의 70 ~ 99 %의 순수 집적물을 얻었다.

<36> 투과여액을 다시 1회 이상 이온교환처리로 양이온(NH_2)전하 정화와 음이온(Cl^-)을 도입 기본 수용성 β -글루코사민 섬유소화로 유리되게 하며, 여기에 콜린산 1 % 제조용액에 콜라겐 10 %를 중간축매로 사용하여 면역 γ -글루블린 0.01 ~ 10 %를 나노 결합 및 코팅하고, 이 수용액을 상온증류, 예냉을 거쳐 냉동 건조하여 본 발명의 천연 필름을 제조하기 위한 수용성 키토산을 제조하였다.

<37> 실시예 1 : 압축성형에 의한 수용성 천연필름의 제조

<38> 상기 제조예에 따라 제조된 키토산 90 중량%, 해조류로서 다시마 추출액 5 중량%, 기능성 성분으로서 아스타산틴 5 중량%를 사용하여 농도 3 %의 수용성 겔을 제조하였으며, 4 $^{\circ}\text{C}$ 에서 24 시간동안 숙성시켜 점도가 100 ~ 110 cps(브룩필드 점도계)가 되도록 한 다음 주정 베이스의 경화용액(에탄올 99.9 중량%와 글루타르알데히드 0.1 중량%의 혼합용액)을 통과시켜서 경화시키고, 필름제조기를 통과시켜서 마이크로 나이프로 압축성형하고, 롤링한 다음 80 $^{\circ}\text{C}$ 에서 50 rpm의 속도로 에어 열풍 건조시켜서 필름을 제조하였으며, 가로 3 cm, 세로 2 cm, 두께 0.5 mm의 필름 시편을 제조하여 다음 특성을 측정하였다.

<39> 실시예 2 : 스프레이 법에 의한 수용성 천연필름의 제조

<40> 상기 제조예에 따라 제조된 키토산 50 중량%, 해조류로서 우무가사리 추출액 25 중량%, 기능성 성분으로서 셀룰로스 25 중량%를 사용하여 농도 3 %의 수용성 겔을 제조하여, 4 ℃에서 24시간동안 숙성시켜 점도가 80 ~ 90 cps(브룩필드 점도계) 가 되도록 한 다음 소수성 폴리 에틸렌테레프탈레이트 필름에 0.5 ~ 0.7 mm두께로 점층 스프레이하고, 주정 베이스의 경화용 액(에탄올 99.9 중량%와 글루타르알데히드 0.1 중량%의 혼합용액)를 통과시켜서 경화시킨 다음 상기 실시예 1과 동일한 방법으로 수용성 천연필름을 제조하였으며, 가로 5 cm, 세로 10 cm, 두께 0.5 mm의 필름 시편을 제조하여 다음 특성을 측정하였다.

<41> 비교예 : 종래의 키토산을 함유하는 천연필름의 제조

<42> 키토산(Sigma, 탈아세틸화도 85 %)을 초산 1 % 희석액에 용해시켜 5 % 농도범위의 키토산 용액을 제조한 후, 상기 실시예 1 과 동일한 필름 캐스팅법으로 필름을 제조하되, 에탄올 99.9 중량%와 글루타르알데히드 0.1 중량%로 이루어진 경화용액에서 경화시켰으며, 필름 제조기를 통과시키고 80 ℃에서 열풍 건조하여 필름을 제조하였다. 제조된 필름은 가로 3 cm, 세로 2 cm, 두께 0.5 mm로 필름 시편을 제조하여 다음 특성을 측정하였으나, 여기서 제조된 키토산 필름은 물에 용해되지 않았으며, 피부자극이 강하기 때문에 구강점막손상의 우려가 있어 식용으로 사용하는데 문제가 있었다.

<43> 실험예 1 : 수용성 키토산의 분자량에 따른 항균활성

<44> 상기 제조예에 따라 제조된 수용성 키토산의 분자량에 따른 항균활성을 최소 저해 농도 (Minimum inhibitory concentration: MIC)로 측정하였으며, 그 결과를 다음 표 1 에 나타내었다.

<45> 【표 1】

분자량(Da)	균종(최소저해 농도: μ M)			
	<i>Staphyrococcus aureus</i> ATCC 6538P	<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	<i>Candida albicans</i> ATCC 10231
1,000	>600	>600	>600	>600
10,000	>600	>600	>600	>600
50,000	300	300	300	300
100,000	5.8	12.8	19	19
500,000	11.0	18.7	21.0	20.0
1,000,000	26.0	27.7	29.3	28.0

<46> 상기 표 1 에 나타낸 바와 같이, 본 발명의 천연 필름의 조성물로 사용된 수용성 키토산의 분자량에 따른 항균 활성도는 분자량이 100,000 ~ 500,000 Da일 경우 5.8 ~ 21.0 으로 나타남을 알 수 있다.

<47> 실험예 2 : 수용성 키토산 농도에 따른 항균활성

<48> 상기 제조예에 따라 제조된 수용성 키토산 겔의 농도에 따른 항균활성을 측정하였으며, 그 결과는 다음 표 2에 나타내었다.

<49> 【표 2】

키토산 겔의 농도	최소저해농도 * (μ M)
1 %	9
2 %	7
주) * Minimum inhibitory concentration: MIC	

<50> 일반적으로 구강에서 구내염, 아구창 및 치아우식증을 유발시키는 균으로 알려진 진균류인 칸디다 알비칸스(*Candida albicans*)에 대한 최소저해농도를 측정하여 항진균활성(antifungal activity)을 살펴보았다.

<51> 상기 표 2에 나타낸 바와 같이, 수용성 키토산 겔은 농도가 증가함에 따라 항진균활성이 증가되는 것으로 나타났으며, 상기 결과에 따라서 인간의 구강세포에 칸디다 알비칸스의 부착을 억제하며 항진균활성을 가질 것으로 예상할 수 있다.

<52> 실험예 3 : 수용성 키토산 필름의 항균활성

<53> 상기 실시예 1 ~ 2에 따라 제조된 수용성 키토산 필름의 항균활성(antimicrobial activity)은 4가지 그램 음성 세균(Gram-negative bacteria)에 대하여 다음과 같은 방법으로 시험되었다.

<54> 한천배지(agar plate) 상에 생성된 집락(colony)수를 세어 항균활성을 측정하였다. 배양된 세균 0.5 ml, 본 발명의 필름을 제조하기 위한 조성물을 가압멸균(autoclave)시킨 용액 0.5 ml, 그리고 0.05 M 아세테이트 완충용액(pH 6.0)을 혼합하여 37 °C에서 1 시간동안 교반시키면서 배양하였다.

<55> 대조군으로는 본 발명의 키토산 필름을 제조하기 위한 조성물 대신 아세테이트 완충용액 4.5 ml가 사용되었으며, 1 ml의 혼합용액은 10 배로 희석되었다.

<56> 상기와 같은 실험군과 대조군을 트립트대두한천배지(Tryptic soy agar, TSA, Difuco)배지와 함께 플라스틱 페트리 디쉬에 분배한 다음 37 °C 배양기에서 24 시간 동안 배양하고, 생

성된 집락을 계수하여 다음 수식식1 에 의해 항균활성도를 계산하였으며, 그 결과는 다음 표 3 에 나타내었다.

<57>

$$\text{항균활성도}(\%) = \frac{\text{대조군의집락수} - \text{실험군의집락수}}{\text{대조군의집락수}} \times 100$$

【수식식 1】

<58> 【표 3】

사용균주(그람음성균)	항균활성(%)*		
	실시예1	실시예 2	대조균
<i>Escherichia coli</i>	> 99 ±0	> 99 ±0	<12 ±0
<i>Escherichia coli</i> O-157	> 99 ±0	> 99 ±0	<12 ±0
<i>Salmonella typhi</i>	> 99 ±0	> 99 ±0	<12 ±0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	> 68 ±3	> 68 ±0	<9 ±2
*평균 ±표준편차.			

<59> 본 발명의 방법에 따라 제조된 키토산의 항균활성을 측정하기 위해 사용된 미생물은 KCTC(Collection of Type Culture)와 ATCC(American Type Culture Collection)사에서 분양받은 균주(*Escherichia coli*, *Escherichia coli* O-157, *Salmonella typhi*, *Pseudomonas aeruginosa*)를 사용하였다.

<60> 상기 사용된 대장균(*E. coli*)은 그람 음성균의 특성을 가지는 균으로서, 수질검사에 있어 병원성 미생물의 오염 여부를 나타내는 지표 세균으로, 상기 균의 생육을 저해함으로써 유해한 병원성 미생물의 오염 정도를 낮출 수 있는 효과가 있다. 특히 *E. coli* O-157 은 그람 음성의 특성을 가지는 균으로서, 인체에 감염되었을 경우 장 출혈을 일으키는 인체 위해를 끼치는 균이다. 또한 살모넬라 티피(*Samonella typhi.*)는 그람 음성의 특성을 나타내는 균으로서, 상기 균의 생육을 저해시킴으로써 패혈증, 위장염 등을 예방할 수 있는 효과를 얻을 수 있다. 슈도모나스 에루지노사(*Pseudomonas aeruginosa*)는 중이염의 원인이 되는 균으로서, 상기 균의 생육을 저해시켜 염증유발 예방 효과를 얻을 수 있다.

<61> 따라서, 상기 표 3에 나타낸 바와 같이, 본 발명의 실시예 1 ~ 2에 따라 제조된 수용성 키토산 필름을 상기 균에 대한 저해효과가, 비교예에서 사용된 통상의 키토산보다 높은 것으로 알 수 있으며, 본 발명의 수용성 키토산 필름을 적용시키지 않은 대조군의 경우와 비교하였을 경우 월등히 우수한 항균활성을 가짐을 알 수 있다.

<62> 실험예 4 : 수용성 키토산 필름의 최소저해농도

<63> 실시예 1 ~ 2에 따라 제조된 본 발명의 수용성 키토산 필름 조성물 1 ml과 비교예에 따라 제조된 통상의 키토산 필름 조성물 1 ml 을 포함하는 트립트 소이 액상 배지(Tryptic soy broth, TSB) 5 ml 에 각각 세균을 접종하여 사용하여 37 °C, 18 시간동안 세균을 배양시킨 다음 최소저해농도를 측정하였으며, 그 결과를 첨부도면 도 1 에 나타내었다.

<64> 최소저해농도(Minimum inhibitory concentration : MIC)는 육안이나 미세 현미경으로 볼 수 없는 세포 증식점에서의 사용된 표본(sample)의 최소농도로 정의한다.

<65> 본 발명의 실시예에 따라 제조된 수용성 키토산 필름 조성물의 최소저해농도값은 *Pseudomonas aeruginosa*(0.25 %)의 경우를 제외하고는 그람 음성균에 대해 0.06 % 이하였다. 상기한 결과는 대조군의 결과인 32 %와 비교하였을 경우 월등히 우수한 최소저해 농도를 나타냄을 알 수 있으며, 적은 양으로 높은 항균활성을 나타낼 수 있음을 알게 하는 결과이다.

<66> 실험예 5 : 수용성 키토산 필름 조성물 농도에 따른 항균활성

<67> *E. coli*, *Fusarium solani* 및 *Lactobacillus casei*를 사용하여 상기 균의 증식에 따른 본 발명의 수용성 키토산 필름 조성물 농도에 따른 생육억제 효과 측정을 분광측정기

(spectrophotometer) 상 660 nm 에서 배양 배지의 시간대별 탁도를 측정하여 나타내었으며, 그 결과는 첨부도면 도 2, 도 3 및 도 4에 각각 나타내었다.

【발명의 효과】

- <68> 이상에서 설명한 바와 같이, 본 발명에 따른 수용성 천연 필름은 기존의 키토산을 포함하는 필름과 달리 물에 용해되는 특성을 보유하므로 사용된 수용성 키토산의 우수한 항균활성을 보다 다양한 분야에 적용할 수 있으며, 구성성분으로 해조류와 기능성성분을 포함함으로써 키토산과의 혼화성을 향상시키고, 필름의 매트릭스에 탄성을 부여하여 필름의 성형이 용이하게 하고, 주요 구성성분이 천연성분으로 이루어져서 인체에 대한 적합성과 섭취시 취식감을 개선하며, 특히 필름 조성물 자체로서 원하는 두께와 크기를 가지는 필름으로 제조하거나 통상의 생분해성 수지 필름에 코팅처리시켜서 제조할 수 있다.
- <69> 따라서, 필름상의 제품의 경우는 휴대가 간편하고, 섭취가 용이하며, 구강세균억제와 구취제거의 효과가 탁월하고 빠르게 발현되므로 속효성 필름형 구강청정제에 적용할 수 있다.
- <70> 또한, 통상의 필름에 100 ~ 500 ppm 의 농도로 코팅처리하여 과일 및 식품의 항균활성의 지닌 포장재에 적용하면 우수한 항균활성으로 인해 식품의 부패를 유발시키는 유해균의 생육을 효율적으로 억제하므로써 장기간동안 신선하게 식품을 보존할 수 있으며 생분해성이 우수하여 자연 분해성 포장재로 이용할 수 있어서 더욱 우수한 효과를 얻을 수 있다.

【특허청구범위】**【청구항 1】**

키틴/키토산을 라이소자임으로 분해처리한 다음, 소금용액상에서 초음파처리하고, 이온 교환처리하여 제조된 수용성 β -글루코사민 함유소를, 면역단백질로서 γ -글루블린으로 나노코팅시켜 제조된 면역성이 강화된 수용성 키토산 20 ~ 99.98 중량%;

우무가사리, 해파리, 미역, 다시마 및 이들의 추출액 중에서 선택된 하나 또는 둘 이상의 혼합물로서의 해조류 0.01 ~ 75 중량%;

γ -글루블린, 콜린산, 아스타잔틴(Astaxanthin), 루틴(Rutin), 렉시틴(Lecithin), 목향(*Inula helenium L.*), 셀룰로스 및 콜라겐 중에서 선택된 하나 또는 둘 이상의 혼합물로서의 기능성성분 0.01 ~ 30 중량% 을 포함하는 성분으로 구성된 것임을 특징으로 하는 수용성 키토산 천연필름 조성물.

【청구항 2】

제 1 항에 있어서, 상기 수용성 키토산은 분자량 10,000 ~ 1,000,000 Da 인 것임을 특징으로 하는 수용성 키토산 천연필름 조성물.

【청구항 3】

키토산을 함유하는 필름을 제조하는 방법에 있어서,

1) 키틴/키토산을 라이소자임으로 분해처리한 다음, 소금용액상에서 초음파처리하고, 이온교환처리하여 제조된 수용성 β -글루코사민 섬유소를, 면역단백질로서 γ -글루블린으로 나노코팅시켜 면역성이 강화된 수용성 키토산을 제조하는 단계;

2) 상기 면역성이 강화된 수용성 키토산 20 ~ 99.98 중량%, 우무가사리, 해파리, 미역, 다시마 및 이들의 추출액 중에서 선택된 하나 또는 둘 이상의 혼합물로서의 해조류 0.01 ~ 75 중량%, γ -글루블린, 콜린산, 아스타잔틴(Astaxanthin), 루틴(Rutin), 렉시틴(Lecithin), 목향(*Inula helenium L.*), 셀룰로스 및 콜라겐 중에서 선택된 하나 또는 둘 이상의 혼합물로서의 기능성 성분 0.01 ~ 30 중량%를 포함하는 구성성분을 증류수에 용해시켜 0.001 ~ 70 % 농도의 겔을 만드는 단계;

3) 상기 2 단계에서 제조된 겔을 점도가 10 ~ 150 cps가 될 때까지 숙성시키는 단계;

4) 상기 3 단계에서 숙성된 겔을 에탄올 95 ~ 99.9 중량%와 글루타르 알데히드 0.1 ~ 5 중량%로 이루어진 경화용액으로 경화시키는 단계; 및

5) 상기 4 단계에서 경화된 겔을 압축성형 또는 생분해성 필름 또는 통상의 필름의 일면 또는 양면에 스프레이 처리한 다음 건조시키는 단계를 포함하여 구성된 것을 특징으로 하는 수용성 키토산 천연필름의 제조방법.

【청구항 4】

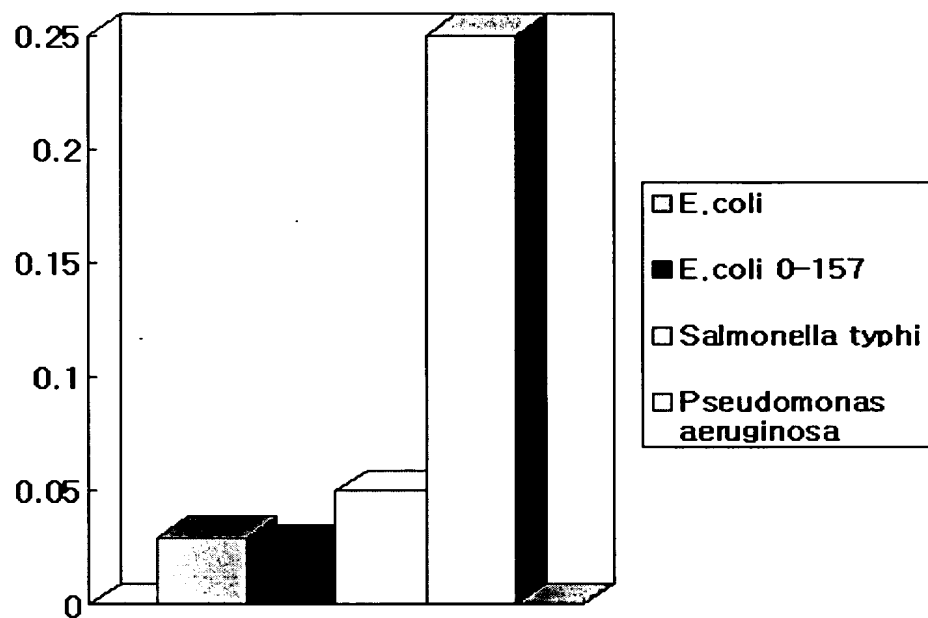
상기 청구항 1의 수용성 키토산 천연필름 조성물을 필름으로 성형가공한 것임을 특징으로 하는 구강 청정제용 수용성 키토산 천연필름.

【청구항 5】

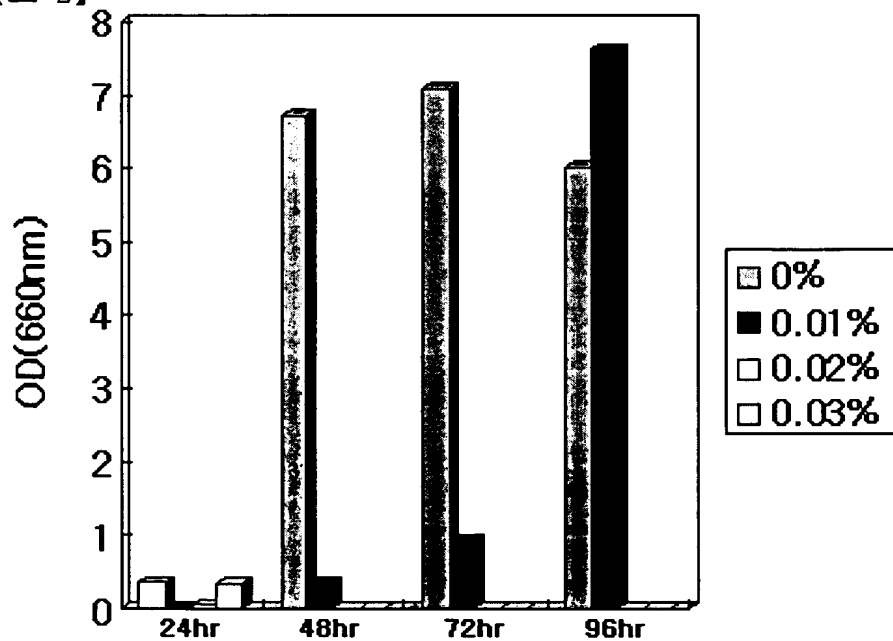
상기 청구항 1의 수용성 키토산 천연필름 조성물이 생분해성 필름 또는 통상의 필름의 일면 또는 양면에 도포된 것임을 특징으로 하는 항균기능성 포장재용 수용성 키토산 천연필름.

【도면】

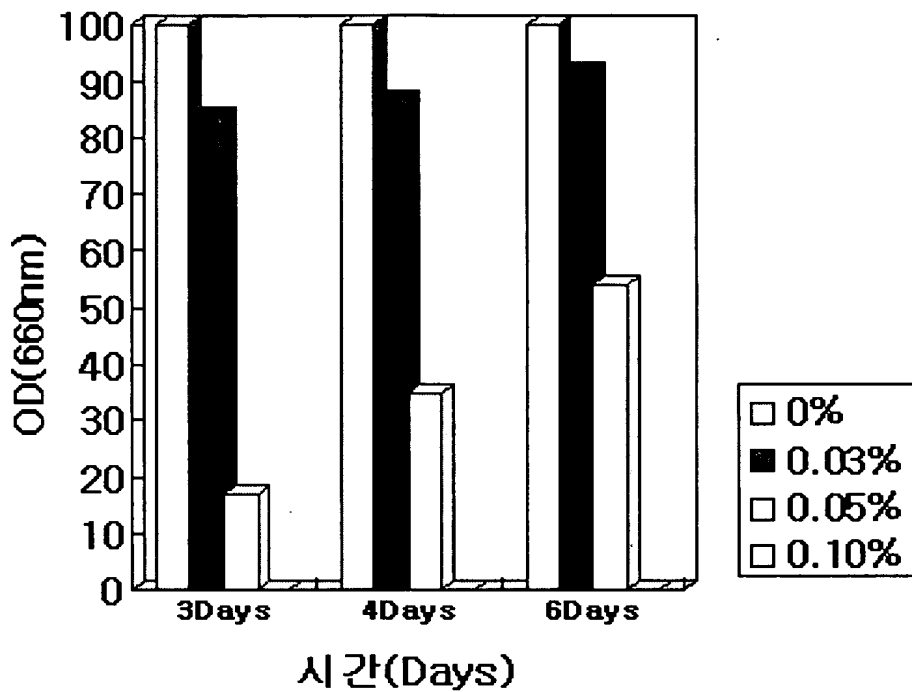
【도 1】



【도 2】



【도 3】



【도 4】

